

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

10/552369

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 10 月 21 日 (21.10.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/089402 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 38/38, B01D 61/14 丁目 6 番 1 号 財団法人化学及血清療法研究所内 Kumamoto (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/005061
- (22) 国際出願日: 2004 年 4 月 8 日 (08.04.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2003-105493 2003 年 4 月 9 日 (09.04.2003) JP
特願2003-105492 2003 年 4 月 9 日 (09.04.2003) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 財団法人化学及血清療法研究所 (JURIDICAL FOUNDATION THE CHEMO-SERO-THERAPEUTIC RESEARCH INSTITUTE) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊本市大窪一丁目 6 番 1 号 Kumamoto (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 田川 カー (TAGAWA, Rikichi) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊本市大窪一丁目 6 番 1 号 財団法人化学及血清療法研究所内 Kumamoto (JP). 早瀬 啓洋 (HAYASE, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊本市大窪一丁目 6 番 1 号 財団法人化学及血清療法研究所内 Kumamoto (JP). 前村 公太 (MAEMURA, Kota) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊本市大窪一丁目 6 番 1 号 財団法人化学及血清療法研究所内 Kumamoto (JP). 谷川 久 (TANIGAWA, Hisashi) [JP/JP]; 〒8608568 熊本県熊本市大窪一
- (74) 代理人: 河宮 治, 外 (KAWAMIYA, Osamu et al.); 〒5400001 大阪府大阪市中央区域見 1 丁目 3 番 7 号 IMP ビル 青山特許事務所 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING ALBUMIN PREPARATION

(54) 発明の名称: アルブミン製剤の製造方法

(57) Abstract: A highly safe and stable albumin preparation, which is less contaminated with infective foreign viruses, is efficiently produced on a commercial scale. Namely, a process involving the removal step of treating a serum albumin-containing solution with a virus-removing membrane preferably having a pore size of 10 to 20 nm. In particular, the filtration is carried out prior to a heat treatment for inactivating viruses. In a still preferred embodiment, a pretreatment of treating with an anion exchanger and a prefilter is carried out prior to the filtration step.

(57) 要約: 感染性夾雑ウイルス混入の可能性を低減させた安全性、安定性に優れたアルブミン製剤を商業的規模で効率的に製造する。血清アルブミン含有溶液を、好適には 10~20 nm の孔径を有するウイルス除去膜で除去する工程、とりわけウイルス不活性化を目的とする加熱処理に先立って当該濾過工程を実施することからなる。さらに好ましい態様として、当該濾過工程に先立ち陰イオン交換体及び/プレフィルターにより処理することからなる前処理を付す。

WO 2004/089402 A1

明 細 書

アルブミン製剤の製造方法

技術分野

本願発明は、医療用医薬品の分野に関する。詳細には、血漿分画製剤の一種である血清アルブミン製剤の製造方法に関する。さらに詳細には、製造工程中にウイルス除去膜濾過工程が組み込まれた血清アルブミン製剤の製造方法に関し、当該製造方法を採用することにより、感染性ウイルスの夾雑の可能性を低減する安全性に優れた製剤を効率的に製造することを可能とする。

背景技術

血清アルブミンは分子量6.6万Daの蛋白質で、585個のアミノ酸からなる楕円状の分子である。血清アルブミンは全蛋白質中の約6割を占める血漿中に最も多く含まれる蛋白質であって、生体内では肝臓で合成される。そして、血液中で血漿膠質浸透圧の維持、毒物の中和や酸塩基平衡の維持に関与しており、また多くの薬物や化合物と非特異的に結合し、それらを運搬する役割を担う。

上記アルブミンを製剤化したアルブミン製剤は、火傷、ネフローゼ症候群等によるアルブミン喪失およびアルブミン合成能低下による低アルブミン血症、出血性ショックなどの治療に用いられている。アルブミン製剤（加熱人血漿蛋白を含む）は、蛋白質濃度が4.4～25%（うち、アルブミン含量が80%以上もしくは96%以上）という高濃度の蛋白質製剤である。また、製剤1本あたりの容量も20～250mLと大量であり、その製造においては大量かつ大容量の蛋白質を処理することが求められる。

ところで、蛋白、特に生体由来の蛋白、より具体的には血液由来の蛋白は、エイズウイルス、各種肝炎ウイルス、ヒトパルボウイルスB19などの種々のウイルスに汚染されている可能性は否定できない。従って、これらを原料とした薬剤の製造に際しては、ウイルスを十分に除去または不活化する工程を組み込むことが必須である。

血液由来の製剤、即ち血液製剤に夾雑する可能性を否定できないウイルスを不活化する方法としては、加熱処理法が汎用されている。その他、特殊な溶媒と洗浄剤を用いるソルベントディタージェント法（SD法）等もウイルス不活化の方

法として採用され得る（特開昭60-051116を参照）。また、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーによってもウイルスの除去が可能である（Developments in Biological Standardization, Vol., 81, 199-209 (1993)を参照）。しかし、これらいずれの方法も一長一短があり、単独の方法での各種ウイルスの完全不活化、完全除去は期し難く、従って複数の方法を組み合わせる用いることが有効であると考えられている。

本願発明の対象となるアルブミン製剤は、液状加熱（60℃、10時間）及びアルコール分画によるウイルス不活化/除去が施されており、そのウイルスに対する安全性は50年来の臨床使用により実証されている。しかしながら、さらなる安全性の観点から、これらの工程を経ても不活化/除去されないウイルス等の病原体、または発見されていない未知のウイルス等病原体への対策として、ウイルス除去膜濾過導入によるウイルス等病原体の除去が検討されているが、未だ実際の商業規模での製造工程においてアルブミン製剤に導入された例はない。

発明の開示

（発明が解決しようとする技術的課題）

ウイルス除去膜濾過は、除去膜の孔径よりも大きなサイズを有するウイルス等病原体を製造工程で製剤から排除しようとするものである。しかしながら、蛋白質溶液からの膜によるウイルス等病原体除去における大きな問題は、膜が目詰まりを起こして、濾過が困難になるか、不能になる点である。

ウイルス除去膜の孔径はメーカーや規格毎に異なり、10～70nmの大きさを有する。一方、濾過において除去膜の孔を通液させたい蛋白質の分子量は10～数1000kDaであるが、分子の大きさとしてはウイルス除去膜の孔径と同レベルにある。ウイルス除去膜の孔径は小さければ小さい程より小さいウイルスまで捕捉除去できるため期待される効果は大であるが、通過させる蛋白質の大きさ次第では、蛋白質とウイルスとの分離は不可能となる。従って、蛋白質溶液のウイルス除去膜濾過においては、通過させたい蛋白質の大きさを考慮して、使用する除去膜の孔径を選択する必要がある。また、適切な孔径の除去膜を選定したとしても、その目的とする蛋白質溶液中に存在する微量の凝集体や夾雑蛋白質は、除去膜の孔を通過できず孔を塞いでしまい、目詰まり、ひいては濾過の障害を引

き起こす。特に、小孔径（10～20 nm）のウイルス除去膜での濾過においては、孔を通過できる蛋白質の大きさは小さく、濾過液中に含まれる蛋白質の種類と量次第では、この目詰まり防止が課題となる。

加えて、他の血漿蛋白製剤に比べてアルブミン製剤の製造工程では、処理すべき蛋白質量が膨大であることから、ウイルス除去膜濾過を導入する場合には、製造工程中のどの工程段階で濾過するか、いかなる組成、性状のアルブミン含有水溶液を濾過するかがウイルス除去膜導入のポイントとして考慮されなければならない。また、ウイルス除去膜の使用数量、濾過面積及びそれに要するコストの問題も導入のポイントとして挙げられる。つまり、ウイルス除去膜濾過工程導入にあたっては、高価なウイルス除去膜の使用数量をできるだけ少なく抑えることができる条件を見出すことが、工業的な応用には必須である。

（その解決方法）

本願発明は、感染性ウイルスの夾雑の可能性を低減する安全性に優れる製剤を効率的に製造することを目的とし、薬液中のウイルス等病原体の除去を目的として使用されているウイルス除去膜による濾過を、これまで試みられることのなかった商業的実生産規模でのアルブミン製剤の製造工程に適応するに際し、良好な濾過特性を見出し、完成したものである。

これまで、アルブミン製剤においてウイルス除去膜濾過の良好な濾過条件が示されていないことから、本願発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、アルブミン含有水溶液をウイルス除去膜で濾過する場合、目詰まりの原因となる、ウイルス除去膜の孔径以上の大きさの夾雑蛋白質をウイルス除去膜濾過前に除去又は低減化することで、良好な濾過が可能であることを見出した。

さらに、アルブミン製造工程中でウイルス不活化を目的とした加熱安定剤存在下での60℃、10時間以上の液状加熱処理工程に先立ち、アルブミン含有水溶液のウイルス除去膜濾過を実施することで優れた濾過特性が得られることを見出した。

（従来技術より有効な効果）

本願発明のウイルス除去膜による濾過において、加熱処理工程以前のアルブミン含有溶液は、優れた濾過特性を示す点が明らかになった。また、好適な態様と

して示される、陰イオン交換体及び／またはプレ濾過での前処理により、溶液の化学的条件を操作せずに、濾過面積あたりの濾過量の増加という効果が得られることも確認できた。つまり、少ない濾過面積で大量のアルブミン溶液を濾過することにより、アルブミン製剤製造へのウイルス除去膜濾過の導入に関して、工業スケールでの適用を可能とする。

本願発明の製造方法によれば、これまでのアルコール分画と加熱処理でのウイルス除去/不活化に加えて、ウイルス除去膜濾過という新しい機序での除去方法が可能となり、本願発明により得られたアルブミン製剤は、より安全性に優れた製剤として提供される。

本願発明は、これまで、アルブミン製剤においてウイルス除去膜濾過の良好な濾過条件が示されていないことから、アルブミン製剤の製造工程へのウイルス除去膜濾過導入に道を拓くものといえる。

図面の簡単な説明

図1は、本願発明によってもたらされるアルブミン製剤の製造方法に組み込まれたウイルス除去膜を用いた濾過工程における濾過特性を示す。

図2は、本願発明によってもたらされるアルブミン製剤の製造方法に組み込まれたウイルス除去膜を用いた濾過工程における、各種前処理を施した場合の濾過特性（濾過量の効果）を示す。

図3は、本願発明によってもたらされるアルブミン製剤の製造方法に組み込まれたウイルス除去膜を用いた濾過工程における、タイプ別のプレ濾過の濾過流量効果を示す。

発明を実施するための最良の形態

アルブミン溶液中には、ハプトグロビン、トランスフェリンやヘモペキシン等の他の蛋白質、並びにアルブミン自身の凝集体が夾雑蛋白質として含まれているうえに、アルブミン製剤の製造工程において液状加熱処理工程中、加熱安定剤は存在するものの熱による蛋白質の変性は避けられず、加熱後の工程液には微量の凝集体の形成が認められる。加えて、アルブミン自身が安定剤として添加されるN-アセチルトリプトファンナトリウム及びカプリル酸ナトリウムと相互作用し、その三次構造が変化していることが考えられる。これらが目詰まりの原因となる

と思われるが、この加熱処理工程によってアルブミンがウイルス除去膜濾過を困難にしているという報告はこれまでなされていない。

さらに好適な態様として、ウイルス除去膜濾過を行う前に、アルブミン溶液に対して陰イオン交換体処理及び／またはプレ濾過（除去サイズ35～200 nm）による前処理を実施し、夾雑蛋白質を除去又は低減化することで、ウイルス除去膜濾過時の目詰まりを抑制することができ、大きな流速低下を伴わないアルブミン溶液の小孔径ウイルス除去膜（10～20 nm）での濾過をも可能とし、これによりウイルス除去膜の使用数量も削減され、アルブミン製剤製造での好適な工業的適用をもたらす。

本願発明に係る製剤の主成分であるアルブミンの由来には、特段の制約はなく具体的には哺乳動物、例えばヒト、ウシ、ウサギ等に由来するもの、また、遺伝子組換え技術に基づく培養細胞に由来するもの等が挙げられ、特にヒト由来のものは実用的なものであり、例えば、コーン氏の冷アルコール分画によって得られた第V画分は好適な原材料として例示される。

本願発明のアルブミン製剤の製造方法は、上記アルブミンを含有する水溶液をウイルス除去膜に濾過し、夾雑の可能性あるウイルスを除去する工程を含むものであればすべてを包含するが、ウイルス不活化を目的とする加熱処理以前に本願の濾過工程を実施することにより、好ましい濾過特性をもたらすことができる。

ここで用いられるウイルス除去膜としては、10～20 nmの孔径を有するウイルス除去膜が好ましい。この要件を満たすウイルス除去膜であれば特段の制約はないが、例えば、プラノバ15N（旭化成）、ウルチポアVF-DV20（ポール）、バイアソルブNFP（ミリポア）等の製品名で市販されている除去膜は好適な例として挙げられる。

さらに、目詰まりの原因となる夾雑蛋白質を、陰イオン交換体での荷電に基づく分離除去及び／またはプレフィルター（除去サイズ35～200 nm）でのサイズに基づく分離除去によって前処理した上で、ウイルス除去膜濾過を行うことよりその効果を高めることができる。

本願発明では、好適な態様として、ウイルス除去膜を用いた濾過工程に先立って実施される前処理工程を行っており、陰イオン交換体による前処理またはプレ

濾過による前処理並びにこれらを組み合わせることよりなる。各々の前処理単独によっても相応の効果は得られるが、組み合わせることによってその効果は増長される。各前処理の具体的な態様は、以下のとおりである。

(1) 陰イオン交換体による前処理の方法

- 5 pH、電気伝導度及び蛋白質濃度を調整したアルブミン含有水溶液を、適切な緩衝液で平衡化された陰イオン交換体に展開し、当該溶液中に含まれる夾雑蛋白質をこれに吸着させることにより除去する。使用する陰イオン交換体は、陰イオン交換基を有する不溶性担体であれば使用でき、具体的には、DEAE-セファ
- 10 ローズ（アマシャム・ファルマシア）、Q-セファローズ（アマシャム・ファルマシア）、DEAE-トヨパール（東ソー）、QAE-トヨパール（東ソー）等が例示される。好ましくは、Q-セファローズやQAE-トヨパールの強陰イオン交換体が挙げられる。

(2) プレ濾過による前処理の方法

- 15 pH及び蛋白質濃度を調整したアルブミン含有水溶液を、プレフィルター（除去サイズ35～200nm）に通液し、目詰まりの原因と考えられる35～200nm以上の大きさの蛋白質粒子をこれに捕捉させることにより除去する。使用するプレフィルターとしては、カートリッジ型フィルター（ザルトリウス社、ザルトポア2、0.1μm）、中空糸フィルター（旭化成、マイクロザ、0.1μm）、多孔膜中空糸（旭化成、プラノバ、35nm）等が例示される。好ましくは、
- 20 ザルトポア2やプラノバ35nmが挙げられる。

本発明に従い、アルブミン製剤は例えば以下のようにして調製することができる。

(1) アルブミン含有水溶液の調製

- 25 コーン氏のアルコール分画によって得られた第V画分ペーストに、注射用水（日局）をペースト重量の2倍以上加え攪拌溶解し、限外濾過法により脱アルコールしたアルブミン画分を、pH4～5（好ましくは4.4～4.6）、EC5mS/cm以下（好ましくは1.5mS/cm以下）、蛋白濃度5～15w/v%（好ましくは8～12w/v%）に調整する。

(2) イオン交換体による前処理の方法

pH 4～5（好ましくは4.4～4.6）、EC 5 mS/cm以下（好ましくは1.5 mS/cm以下）の酢酸バッファーで平衡化した陰イオン交換体（例えば、DEAE-セファロース（アマシャム・ファルマシア）、Q-セファロース（アマシャム・ファルマシア）、DEAE-トヨパール（東ソー）、QAE-トヨパール（東ソー））に、前記（1）で調製されたアルブミン含有水溶液を展開し、素通り画分を回収する。

（3）フィルターによる前処理の方法

蛋白濃度 5～15 w/v %（好ましくは6～10 w/v %）、pH 6～7.5（好ましくは6.6～7.2）に調整された前記（2）の前処理をしたアルブミン含有水溶液を、35～200 nmのサイズ排除が可能なフィルターを用いて濾過し、回収する。

（4）本願発明の処理：ウイルス除去膜への通液

プラノバ15N（旭化成）に、蛋白濃度 5～15 w/v %（好ましくは6～10 w/v %）、pH 6～7.5（好ましくは6.6～7.2）に調整されたアルブミン含有水溶液を通液し、回収する。

（5）バルク調製

（4）で得られた回収液を、蛋白濃度を 5～30 w/v %（通常5または20～25 w/v %）になるように調整する。この際、蛋白の濃縮が必要な場合には限外濾過法を用いた。蛋白 1 g 当り、N-アセチルトリプトファンナトリウム及びカプリル酸ナトリウムをそれぞれ0.08 mmol となるように加え、溶液 pH を 6.9 ± 0.5 とし、これを孔径 $0.22 \mu\text{m}$ 以下の濾過膜を用いて除菌濾過して最終バルクとする。

（6）加熱処理及び小分け分注

最終バルクを $60.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で10時間以上加熱したものを、所定量ずつバイアルに無菌的に分注して、密栓する。

以下に、調製例及び実施例に従って本願発明を詳説するが、本願発明はこれら実施例に何等限定されるものではない。

調製例

（アルブミン製剤の調製）

(1) アルブミン含有水溶液の調製

コーン氏のアルコール分画によって得られた第V画分ペーストに、注射用水
(日局)をペースト重量の2倍以上加え攪拌溶解し、限外濾過法により脱アルコ
ールしたアルブミン画分を、pH 4.54、EC 1.5 mS/cm以下、蛋白濃度
5 12 w/v%に調整した。

(2) イオン交換体による前処理の方法

pH 4.51、EC 5 mS/cm以下の酢酸バッファーで平衡化した陰イオン交
換体(Q-セファロース(アマシャム・ファルマシア))に、前記(1)で調製
されたアルブミン含有水溶液を展開し、素通り画分を回収した。

10 (3) フィルターによる前処理の方法

蛋白濃度8 w/v%、pH 6.98に調整された前記(2)の前処理をしたアル
ブミン含有水溶液を、100 nmのサイズ排除が可能なフィルターを用いて濾過
し、回収した。

(4) 本願発明の処理：ウイルス除去膜への通液

15 プラノバ15 N(旭化成)に、蛋白濃度8 w/v%、pH 6.98に調整された
アルブミン含有水溶液を通液し、回収した。

(5) バルク調製

(4)で得られた回収液を、蛋白濃度を25 w/v%になるように調整した。
この際、蛋白の濃縮が必要な場合には限外濾過法を用いた。蛋白1 g当り、N-
20 アセチルトリプトファンナトリウム及びカプリル酸ナトリウムをそれぞれ0.0
8 mmolとなるように加え、溶液pHを 6.9 ± 0.5 とし、これを孔径0.2
2 μ m以下の濾過膜を用いて除菌濾過して最終バルクとした。

(6) 加熱処理及び小分け分注

最終バルクを $60.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ で10時間以上加熱したものを、所定量ずつ
25 バイアルに無菌的に分注して、密栓した。

実施例 1

(本願発明の好適な濾過特性の確認)

アルブミン製剤製造工程での本願発明による効果を確認するために、各工程の
段階のアルブミン含有水溶液を用いて下記のように比較した。i) 調製例(1)

→ (3) の工程を実施して得られる加熱処理前のアルブミン含有水溶液を蛋白質濃度 8 %、pH 4 ~ 9 に調整し、ウイルス除去膜に定圧濾過する場合と、ii) 比較例として調製例 (1) → (3) の工程で得られる加熱処理前のアルブミン含有水溶液を濃縮して最終バルク調整工程を実施し蛋白質濃度 8 %、pH 7 に再調整して、ウイルス除去膜に定圧濾過する場合、及びiii)調製例 (1) → (3) の工程で得られる加熱処理前のアルブミン含有水溶液を濃縮して最終バルク調整工程さらに加熱処理工程を実施し、蛋白質濃度 8 %、pH 7 に調整して、ウイルス除去膜に定圧濾過する場合の 3 例で濾過特性を比較した。

結果を図 1 に示す。図 1 から明らかなように加熱処理後のアルブミン溶液の濾過に比べ、本願発明による加熱処理前のアルブミン溶液において優れた濾過特性があることが判明した。特に、加熱処理後のアルブミン溶液に比べて、加熱処理前のアルブミン溶液は、約 50 倍以上のアルブミンの濾過が可能であることが判明した。

実施例 2

15 (本願発明前処理の効果の確認)

陰イオン交換体処理及び/またはプレ濾過による効果を確認するために、調製例の (1) により得られるアルブミン含有水溶液を、本願発明による前処理の 1) 陰イオン交換体 (Q-セファロース (アマシャム・ファルマシア)) 処理のみ、2) プレ濾過 (カートリッジ型フィルター (ザルトリウス社、ザルトポア 2、 $0.1 \mu\text{m}$)) 処理のみ、及び 3) 陰イオン交換体 (Q-セファロース (アマシャム・ファルマシア)) とプレ濾過 (カートリッジ型フィルター (ザルトリウス社、ザルトポア 2、 $0.1 \mu\text{m}$)) を組み合わせた前処理、並びに比較例として 4) 未処理のアルブミン溶液をそれぞれ蛋白質濃度 8 % となるように注射用水 (日局) で調整し、1 w/v % 水酸化ナトリウム溶液で pH を 6.98 に調整し、ウイルス除去膜 (旭化成、プラノバ、15 N) を用いて 0.5 kg f / cm^2 の定圧濾過を実施した。結果、各濾過の流量を単位膜面積あたりのアルブミン通液容量で表した結果を図 2 に示す。

図 2 から明らかなように未処理のアルブミン溶液の濾過に比べ、本願発明による前処理を実施したアルブミン溶液の濾過量に増加効果があることが判明した。

特に、陰イオン交換体処理とプレ濾過処理を組み合わせると、未処理のアルブミン溶液に比べて約2倍以上のアルブミンの濾過が可能であることが判明した。

実施例 3

(タイプ別プレフィルターの濾過流量効果の確認)

- 5 プレフィルターのタイプ毎の濾過流量の効果を比較確認するために調製例の②により得られるアルブミン含有水溶液を、本願発明によるプレ濾過処理として
- 1) カートリッジ型フィルター (ザルトリウス社、ザルトポア 2、 $0.1 \mu\text{m}$)、
- 2) 中空糸フィルター (旭化成、マイクロザ、 $0.1 \mu\text{m}$)、及び 3) 多孔膜
- 10 中空糸 (旭化成、プラノバ、 35 nm) を前処理として実施したアルブミン溶液、並びに比較例として 4) 未処理 (未プレ濾過) のアルブミン溶液を、それぞれ蛋白濃度 8% となるように注射用水 (日局) で調整し、 $1 \text{ w/v} \%$ 水酸化ナトリウム溶液で pH を 6.98 に調整し、ウイルス除去膜 (旭化成、プラノバ 15N) を用いて 0.5 kg f/cm^2 の定圧濾過を実施した。結果、各濾過の流量を単位膜面積あたりのアルブミン通液重量で表した結果を図 3 に示す。図 3 から明らかな
- 15 ように陰イオン交換体といずれのタイプのプレフィルターを組み合わせても濾過面積あたりの濾過量の増加という効果が得られることが判明した。特にカートリッジ型フィルター (ザルトリウス社、ザルトポア 2、 $0.1 \mu\text{m}$)、多孔膜中空糸 (旭化成、プラノバ、 35 nm) で濾過流量の増加効果が大きいことが判明した。

実施例 4

- 20 (ウイルス除去効果の確認)

- 本願発明によるウイルス除去効果を確認するために、調製例 (1) → (3) の工程を実施して得られるウイルス除去膜濾過を実施する前のアルブミン含有水溶液 49 容量に対し、i) 仮性狂犬病ウイルス (PRV) 液 1 容量を加えた場合、ii) ウシウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 液 1 容量を加えた場合、iii) マウス脳心筋炎ウイルス (EMCV) 液 1 容量を加えた場合、iv) ブタパルボウイルス (PPV) 1 容量を加えた場合のそれぞれ 4 種のウイルス混合溶液をウイルス除去膜 (プラノバ 15N、旭化成) に濾過し、濾過前後でのウイルス感染価を測定して、ウイルス除去効果を確認した結果を表 1 に示す。表 1 から明らかなように、いずれのウイルスに対してもウイルス除去膜濾過による明らかな除去効果が判明した。
- 25

表 1

ウイルス除去膜濾過によるウイルス除去効果

	除去効果
i) PRV	≥ 5.0
ii) BVDV	≥ 5.1
iii) EMCV	≥ 4.9
iv) PPV	4.1

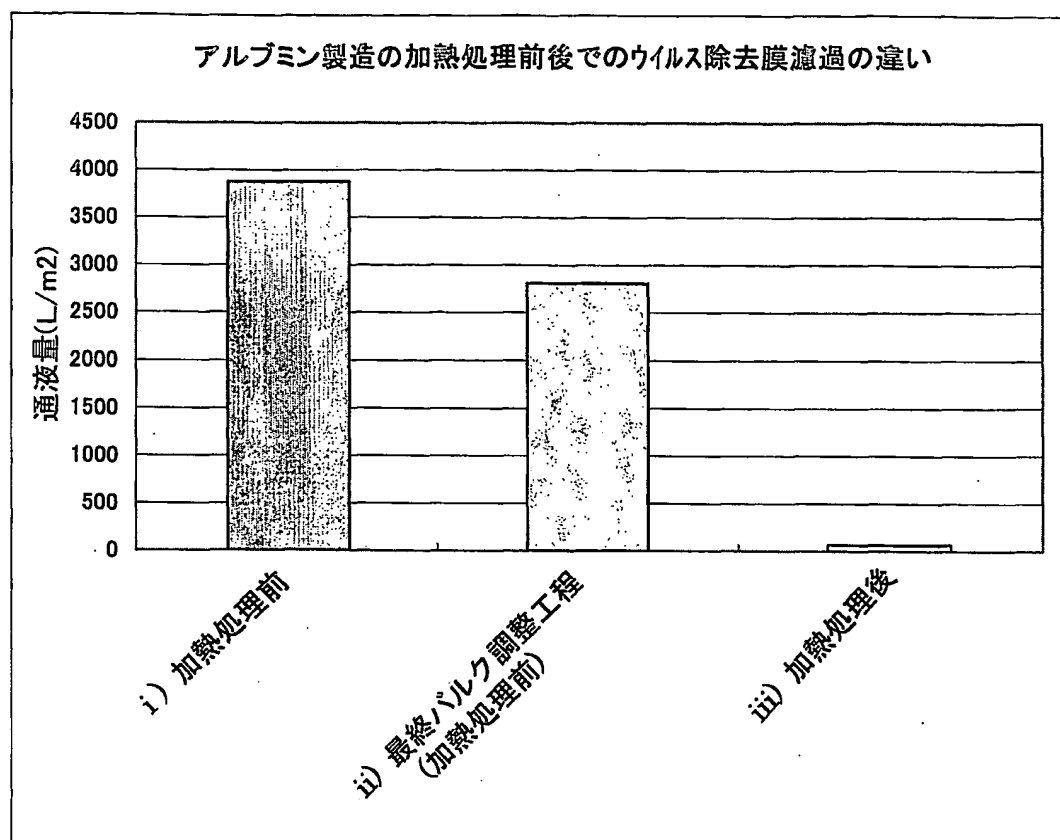
数値：ウイルス感染価 ($\log TCID_{50}/ml$)

請 求 の 範 囲

1. ウイルス除去膜濾過工程が組み込まれたアルブミン製剤の製造方法。
2. アルブミン含有溶液を液状加熱処理工程以前にウイルス除去膜濾過工程に付すことを特徴とする請求項1記載のアルブミン製剤の製造方法。
- 5 3. 前記ウイルス除去膜濾過工程に使用されるウイルス除去膜が除去サイズ10～20nmの孔径を有するものである、請求項1または請求項2のいずれかに記載のアルブミン製剤の製造方法。
4. アルブミン含有溶液をウイルス除去膜濾過工程に付す前に陰イオン交換体及び/またはプレフィルタにより処理することを含む、請求項1ないし3のいずれかに記載のアルブミン製剤の製造方法。
- 10 5. 当該処理に使用されるプレフィルタが除去サイズ35～200nmの孔径を有するものである、請求項4記載のアルブミン製剤の製造方法。
6. アルブミン含有水溶液のウイルス除去膜を用いた濾過工程に先立ち実施される、当該アルブミン含有水溶液を陰イオン交換体及び/またはプレフィルタにより処理することからなるウイルス除去膜工程前処理方法。
- 15 7. 当該処理に使用されるプレフィルタが除去サイズ35～200nmの孔径を有するものである、請求項6記載のウイルス除去膜工程前処理方法。

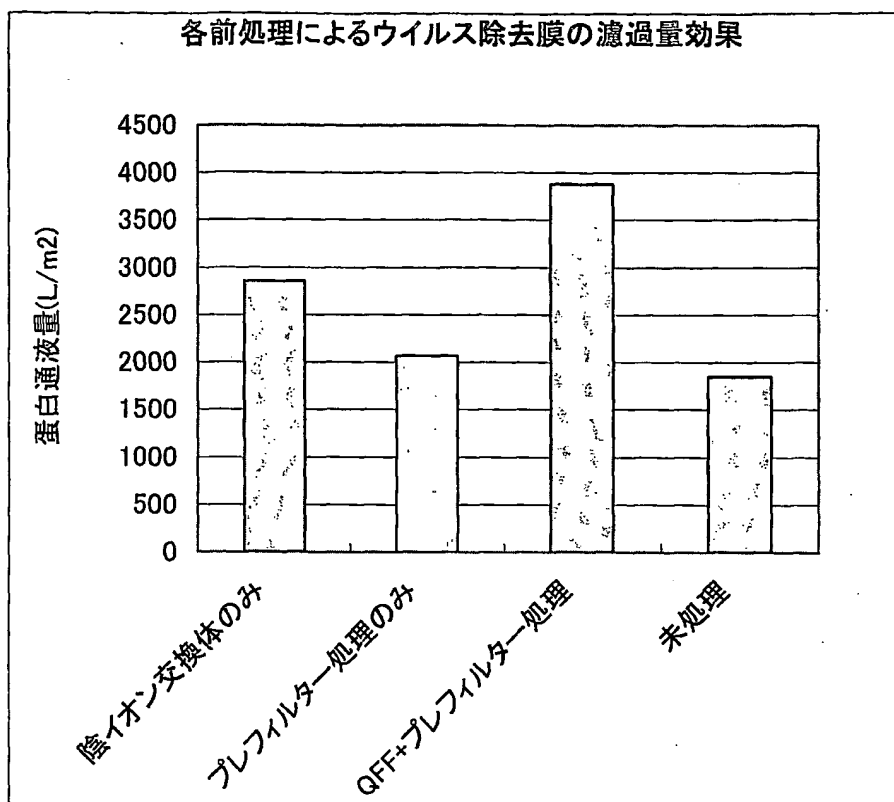
1/3

図 1



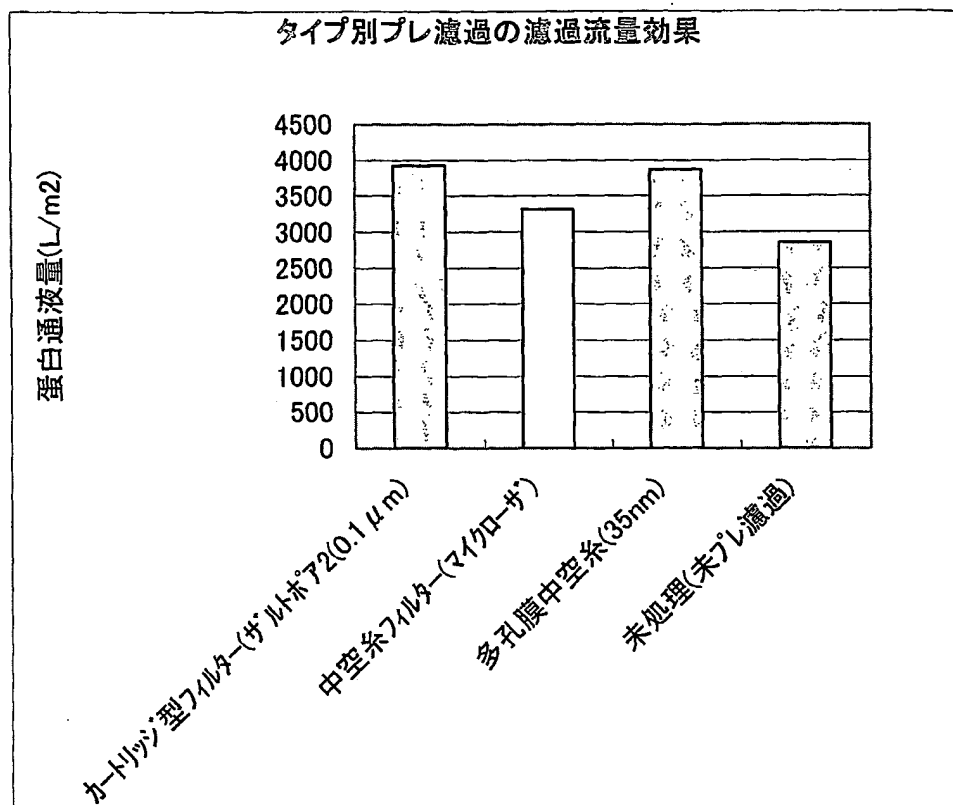
2/3

図 2



3/3

図 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/005061

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K38/38, B01D61/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K38/38, B01D61/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2004

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2004 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN)

REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 6-279296 A (Asahi Chemical Industry Co., Ltd.), 04 October, 1994 (04.10.94), Full text; particularly, Claims 3 to 6; Par. No. [0021] (Family: none)	1, 3 2, 4-7
X Y	JP 2002-117499 A (NIHON PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 16 April, 2002 (16.04.02), Full text; particularly, Claims 1 to 5; examples (Family: none)	1, 3 2, 4-7
X Y	JP 2000-53581 A (ZLB Zentrallaboratorium Blutspendedienst SRK), 22 February, 2000 (22.02.00), Full text; particularly, Par. No. [0022] & EP 976759 A2	1, 3 2, 4-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

04 June, 2004 (04.06.04)

Date of mailing of the international search report

22 June, 2004 (22.06.04)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/005061

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 4-234326 A (The Green Cross Corp.), 24 August, 1992 (24.08.92), Full text; particularly, Claim 3 (Family: none)	2, 4-7
Y	JP 3-17023 A (The Green Cross Corp.), 25 January, 1991 (25.01.91), Full text; particularly, Claim 3 (Family: none)	2, 4-7
Y	JP 1-305036 A (The Green Cross Corp.), 08 December, 1989 (08.12.89), Full text; particularly, Claim 1 (Family: none)	2, 4-7

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁷ A61K38/38, B01D61/14

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁷ A61K38/38, B01D61/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2004年
日本国登録実用新案公報	1994-2004年
日本国実用新案登録公報	1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CAPLUS (STN)
REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	JP 6-279296 A (旭化成工業株式会社) 1994. 10. 04, 全文, 特に請求 項3-6, 段落番号【0021】 (ファミリーなし)	1, 3 2, 4-7
X Y	JP 2002-114799 A (日本製薬株式会社) 2002. 04. 16, 全文, 特に請求 項1-5, 実施例 (ファミリーなし)	1, 3 2, 4-7
X Y	JP 2000-53581 A (ツェットエルペー ツェントラールラボラトリウ ム ブルートシュペンデディーンスト エルエスカー) 2000. 02. 22, 全文, 特に段落番号【0022】 & EP 976759 A2	1, 3 2, 4-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04. 06. 2004

国際調査報告の発送日

22. 6. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小堀 麻子

4 C 2 9 3 8

電話番号 03-3581-1101 内線 3451

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 4-234326 A(株式会社ミドリ十字)1992. 08. 24, 全文, 特に請求 項3 (ファミリーなし)	2, 4-7
Y	JP 3-17023 A(株式会社ミドリ十字)1991. 01. 25, 全文, 特に請求項 3 (ファミリーなし)	2, 4-7
Y	JP 1-305036 A(株式会社ミドリ十字)1989. 12. 08, 全文, 特に請求 項1 (ファミリーなし)	2, 4-7